

(1) 許協力条約に基づいて公開された国際出願

500327

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局(43) 国際公開日  
2003年7月17日 (17.07.2003)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 03/057129 A1

(51) 国際特許分類:

A61J 3/00, A61M 1/36

(74) 代理人: 渡辺 望穂, 外 (WATANABE, Mochitoshi et al.); 〒101-0032 東京都千代田区岩本町2丁目12番5号 早川トナカイビル3階 Tokyo (JP).

(21) 国際出願番号:

PCT/JP02/13687

(22) 国際出願日:

2002年12月26日 (26.12.2002)

(81) 指定国(国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(25) 国際出願の言語:

日本語

(26) 国際公開の言語:

日本語

(30) 優先権データ:

特願2001-400979

2001年12月28日 (28.12.2001) JP

(84) 指定国(広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) 発明者; および

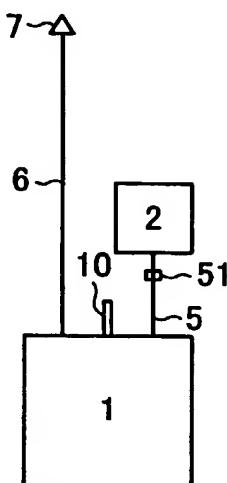
(75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 佐藤 謙一 (SATO, Kenichi) [JP/JP]; 〒259-0151 神奈川県足柄上郡中井町井ノ口1500番地 テルモ株式会社内 Kanagawa (JP). 亀山 俊樹 (KAMEYAMA, Toshiki) [JP/JP]; 〒259-0151 神奈川県足柄上郡中井町井ノ口1500番地 テルモ株式会社内 Kanagawa (JP).

添付公開書類:  
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイドスノート」を参照。

(54) Title: BLOOD BAG SYSTEM AND METHOD OF INACTIVATING PATHOGENIC MICROORGANISMS

(54) 発明の名称: 血液バッグシステムおよび病原微生物の不活化方法



(57) **Abstract:** It is intended to provide a blood bag system having one or more containers capable of holding a liquid and connecting tube(s) liquid-tightly attached to the containers, characterized in that an inactivator for inactivating pathogenic microorganisms contained in blood and/or an anticoagulant are contained in at least one of the containers and the inactivator comprises as the main component a platinum compound capable of binding to nucleic acids of the microorganisms or an aquo complex of the platinum compound, and a method of inactivating pathogenic microorganisms in blood with the use of the above-described platinum compound. Using the system or the method as described above, pathogenic microorganisms in blood are efficaciously inactivated and the inactivation effect is sustained over a long period of time. By neutralizing the thus inactivated blood followed by transfusion, it becomes possible to provide microbiologically and toxicologically safe blood preparations.

WO 03/057129 A1

[統葉有]



---

(57) 要約:

本発明は、液体を収納可能な1以上の容器と、該容器に液密に接続される連結チューブと、を含む血液バッグシステムであって、該容器の少なくとも1つには、血液に含まれる病原微生物を不活性化する不活化剤および／または抗凝固剤が収容されており、該不活化剤は、該微生物の核酸に結合できる白金化合物または該白金化合物のアコ錯体を主成分とするものであることを特徴とする血液バッグシステム、および該白金化合物を用いて血液中の病原微生物を不活性化する方法を提供する。

本発明によれば、血液中の病原微生物の不活性化効果が大きく、かつ該不活性化効果の持続性が高い。また、不活性化された血液を中和処理してから輸血することにより、微生物学的および毒性学的に安全な血液製剤を供給することが可能である。

## 明 細 書

## 血液バッグシステムおよび病原微生物の不活化方法

## 技術分野

本発明は、血液中の病原微生物を不活化する方法、および微生物学的、毒性学的に安全な血液製剤を供給する血液バッグシステムに関する。

## 背景技術

現代の医療に欠かせない輸血であるが、1985年に米国赤十字社がHIV（ヒト免疫不全ウイルス）汚染血液除去のためのスクリーニングを開始するまでに、900人が輸血によりHIVに感染した。それ以降、血液製剤はウイルス感染のスクリーニングが行われ、感染血液製剤が排除されたことで輸血による感染者数は僅か41人となった。しかし、それでもなお、現在のスクリーニング技術では、検査項目以外のウイルスや細菌といった輸血による感染症の原因となる病原微生物を検出することは不可能で、新種のウイルス等に感染する危険性を排除することはできない。そのため血液製剤に対して、病原微生物の不活化処理を行うことが必要となる。

これまでに開発されたウイルス、細菌等の病原微生物に対する不活化技術として、血漿製剤におけるSolvent/Detergent (SD) 処理が知られるが、ノンエンベロープウイルスに効果がないなど、必ずしも安全な血液製剤が供給されていると言えない状況にある。このため、近年、安全な血液を供給するために病原微生物

の不活化剤の開発が活発である。

例えば、エチレンイミンオリゴマーを含むウイルス不活化剤が提案されている（国際公報第W09707674号、W09917802号）が、エチレンイミンオリゴマーはウイルスの不活化に優れるが、不安定な構造のため室温で気化して爆発を起こす。このため、エチレンイミンオリゴマーを用いて血液製剤中の病原微生物を不活化する場合には、作業者が感染する危険性が非常に高い。

また、エチレンイミンオリゴマーの製造・保存には、低温維持が必要になるため、エチレンイミンオリゴマーを含む病原微生物の不活化剤は、製造設備や輸送、保管にも多大な費用がかかるばかりでなく、医療現場で使用する際にもエチレンイミンオリゴマーを含む病原微生物の不活化剤の安全管理により一層の注意が求められるのである。

したがって、本発明の目的は、従来の病原微生物の不活化剤がもたらす諸問題が解消された血液中の病原微生物を不活化する方法、および微生物学的、毒性学的に安全な血液製剤を供給する血液製剤用血液バッグシステムを提供することにある。特に、病原微生物の不活化効果が大きく、該不活化効果に持続性があり、かつ光、温度などの環境条件に対して安定な血液製剤用血液バッグシステムを提供することにある。

### 発明の開示

上記の目的は、以下の本発明により達成される。

本発明は、液体を収納可能な1以上の容器と、該容器に液密に接続される連結チューブと、を含む血液バッグシステムであって、該容器の少なくとも1つに

は、血液に含まれる病原微生物を不活性化する不活化剤および／または抗凝固剤が収容されており、該不活化剤は、該微生物の核酸に結合できる白金化合物または該白金化合物のアコ錯体を主成分とするものであることを特徴とする血液バッグシステムを提供する。

本発明の血液バッグシステムにおいて、前記容器は2つ以上であり、前記不活化剤と、前記抗凝固剤とは、各々異なる容器に収容されており、前記不活化剤が収容されている容器と、前記抗凝固剤が収容されている容器とは、前記連結チューブで連結されていてもよい。

また、本発明の血液バッグシステムにおいて、前記不活化剤と、前記抗凝固剤とは、同一の容器に収容されていてもよい。

したがって、本発明の血液バッグシステムは、抗凝固剤が収容された血液バッグと、血液に含まれる微生物を不活性化する不活化剤が収容された容器とが連結された血液バッグシステムであって、該不活化剤が、該微生物の核酸に結合できる白金化合物または該白金化合物のアコ錯体を主成分とするものであることを特徴とする血液バッグシステムであり、また、抗凝固剤および血液に含まれる病原微生物を不活性化する不活化剤が収容された血液バッグシステムであって、該不活化剤が、該微生物の核酸に結合できる白金化合物または該白金化合物のアコ錯体を主成分とするものであることを特徴とする血液バッグシステムである。

本発明の血液バッグシステムにおいて、前記白金化合物が、シスプラチン、カルボプラチンおよびネダプラチンからなる群から選択される少なくとも一つであるのが好ましい。

本発明の血液バッグシステムにおいて、前記白金化合物のアコ錯体が、モノア

コ錯体（例えば*cis*-monochloromonooqua diammineplatinous(II)chloride）、ジアコ錯体（例えば*cis*-diaquodiammineplatinous(II)dinitrate）、モノアコモノヒドロキソ錯体（例えば*cis*-monohydroxymonoqua diammineplatinous(II)chloride）およびジヒドロキソ錯体（例えば*cis*-dihydroxydiammineplatinum(II)）からなる群から選択される少なくとも一つであるのが好ましい。

本発明の血液バッグシステムにおいて、前記病原微生物が、DNA型ウイルス、RNA型エンベロープウイルスおよび細菌からなる群から選択される少なくとも一つであるのが好ましい。

本発明は、また、血液に含まれる微生物を不活化する方法であって、予め採取した血液が収容された血液バッグに、該病原微生物の核酸に結合できる白金化合物または該白金化合物のアコ錯体を主成分とする微生物不活化剤を添加することを特徴とする病原微生物を不活化する方法を提供する。

本発明の病原微生物を不活性化する方法において、前記微生物不活化剤を0.07 mM ( $\mu\text{mol/mL}$ ) 以上の濃度となるように添加し、前記血液バッグに収容された血液中の $1\log_{10}$ 以上の前記病原微生物を不活化させるのが好ましい。

本発明の病原微生物を不活性化する方法において、前記微生物不活化剤を添加した後に、アミノ酸化合物またはチオ硫酸塩を主成分とする中和剤を添加して該不活化剤を中和処理するのが好ましい。

本発明の病原微生物を不活性化する方法において、前記中和剤が、メチオニンまたはチオ硫酸ナトリウムであるのが好ましい。

本発明の病原微生物を不活性化する方法において、前記中和剤を前記微生物不活化剤の10～500倍の濃度となるように添加するのが好ましい。

本発明は、さらにまた、白金化合物または該白金化合物のアコ錯体を有効成分とする予め採血された血液中の病原微生物を不活化する不活化剤を提供する。

本発明の不活化剤において、前記白金化合物が、シスプラチン、カルボプラチ  
ンおよびネダプラチンからなる群から選択される少なくとも1つであることが好  
ましい。

本発明は、さらにまた、白金化合物または該白金化合物のアコ錯体を予め採血  
された血液中の病原微生物の不活化剤として使用する方法を提供する。

#### 図面の簡単な説明

図1は、本発明の血液バッグシステムの1構成例の概念図である。

図2は、本発明の血液バッグシステムの別の1構成例の概念図である。

図3は、実施例1における白金化合物のSV-40死滅効果を示すグラフであ  
り、SV-40の死滅効果は、不活化効果（対数値（ $\log_{10}$ ））として示されて  
いる。

図4は、実施例2における白金化合物のSV-40死滅効果を示すグラフであ  
り、SV-40の死滅効果は、不活化効果（対数値（ $\log_{10}$ ））として示されて  
いる。

図5は、実施例5におけるシスプラチンのエルシニア菌不活化効果を示すグラ  
フである。

図6は、実施例6におけるシスプラチンのメチオニンを用いた中和効果を示す  
グラフである。

図7は、実施例6におけるシスプラチンのチオ硫酸ナトリウムを用いた中和効

果を示すグラフである。

### 発明を実施するための最良の形態

以下に、本発明を詳細に説明する。

本発明の血液バッグシステムは、少なくとも1つ以上の液体収納可能な容器と、該液体収納可能な容器に液密に連結されており、該容器内に収納された液体の出し入れに使用される連結チューブと、を含んで構成されている。該システムを構成する容器のうち少なくとも1つには、採取した血液を収納するために抗凝固剤が収容されている。以下、この抗凝固剤が収容されている容器を「血液バッグ」という。該血液バッグシステムは、血液バッグ以外に、薬剤や、分離後の赤血球、白血球、血小板または血漿といった血液成分を収容するのに使用される1またはそれ以上の他の容器を有していてもよい。

該血液バッグシステムにおいて、容器が複数ある場合、容器間は互いに連結チューブによって連結されており、該連結チューブを介して該容器内に収納されている液体、例えば血液、をやり取りすることができる。また、血液バッグシステムは、一方の端部のみが容器と連結している連結チューブを含んでいてよい。このような一方の端部のみが容器と連結しているチューブは、主として血液バッグシステムの外部との血液のやり取りに使用されるものであり、具体的には、例えば容器に連結される側の端部とは反対側の端部に採血針が装着された採血チューブが挙げられる。

図1は、本発明の血液バッグシステムの1構成例を示す概念図である。図1に示す血液バッグシステムでは、血液バッグ1と、血液中に含まれる病原微生物を

不活性化する不活性化剤が収容された容器 2 と、他の容器として複数（図では 2 つ）の血液成分バッグ 3、4 とが連結チューブ 5 により連結されている。血液バッグ 1 には、採血チューブ 6 が連結され、その先端には採血針 7 が装着されている。連結チューブ 5 はアルミリングで圧着したり、ヒートシーラーで熱融着されて、封止できるようになっている。また、分離後の血液成分を収容するための血液成分バッグ 3、4 はバッグ毎に容易に切り離しできるようになっている。

図 2 は、本発明の血液バッグシステムの別の 1 構成例を示す概念図である。図 2 に示す血液バッグシステムでは、血液バッグ 1 と、血液中に含まれる病原微生物を不活性化する不活性化剤が収容された容器 2 とが、連結チューブ 5 により連結されている。連結チューブ 5 には、必要な場合以外に、血液バッグ 1 および容器 2 間で内容物が移行されることを防止するため、連結チューブ 5 の開閉手段である弁 5 1 が設けられている。なお、図示していないが、図 1 に示す血液バッグシステムでも、血液バッグ 1、容器 2 および血液成分バッグ 3、4 を連結する連結チューブ 5 には、開閉手段であるクレンメが設けられていることが好ましい。

血液バッグ 1 には、採血チューブ 6 が連結され、その先端には採血針 7 が装着されている。また、血液バッグ 1 には、エア抜き用のチューブ 10 が設けられている。血液バッグ 1 に採血チューブ 6 から採血した血液を導入する際、または容器 2 から不活性化剤を導入する際には、チューブ 10 から血液バッグ 1 内部のエアを排出することで、血液バッグ 1 への血液または不活性化剤の導入を容易に行うことができる。

図 1 および図 2 に示す血液バッグシステムの各構成要素は、安全性に配慮して、可塑剤入り塩化ビニル樹脂などの熱可塑性樹脂の成形品であるのが好ましい。

図示した血液バッグシステムにおいて、血液バッグ1には、抗凝固剤が収容されており、採取された血液の凝固を防止することができる。血液バッグ1に収容される抗凝固剤は、公知の抗凝固剤から広く選択することができ、具体的には例えばクエン酸、ヘパリン、低分子ヘパリン、メシリ酸ナファモスタッフ、メシリ酸ガベキサート、E D T A等が使用できる。これらの抗凝固剤は、通常は生理食塩水やブドウ糖水溶液で希釈され、収納される血液との液比が通常の割合、具体的には例えば、血液との液比（抗凝固剤液：血液）が（1：2～1：20）程度になる量、で収容される。これらの抗凝固剤は、血液保存液の一部をなすものであってもよく、このような血液保存液としては、アデニン、マンニトール、ソルビトール、グアノシン等を1種類以上含む生理溶液、例えばA C D液、C P D液等が挙げられる。

容器2には、血液に含まれる病原微生物を不活化する不活化剤が収容されている。該不活化剤は、必要な場合には、好ましくは開閉手段である弁51を開放することにより、連結チューブ5を通って血液バッグ1に導入される。これにより、血液バッグ1中の血液に含まれる病原微生物が不活化される。

なお、図示した血液バッグシステムでは、血液バッグ1に抗凝固剤が収容され、容器2に不活化剤が収容された構成、すなわち抗凝固剤と不活化剤とが異なる容器に収容された構成であるが、抗凝固剤と不活化剤とが同じ容器に収容されてもよい。すなわち、図示した構成において、不活化剤を予め血液バッグ1に収容してもよい。この場合、採血した血液が血液バッグ1に導入された時点から血液に含まれる病原微生物の不活化が行われる。

ただし、アデニンおよびグアノシンを含む血液保存液を用いる場合は、アデニ

ンおよびグアノシンが白金化合物と反応するので、病原微生物を不活化する前に、白金化合物とアデニンおよびグアノシンを混合することを回避しなければならない。

本発明において、血液に含まれており、不活化が必要な病原微生物は、DNA型ウイルス、RNAエンベロープウイルス、細菌などである。ウイルスは遺伝学的にはDNA型とRNA型に分類され、構造的にはウイルス膜（エンベロープ）の有無で分類されている。現在、輸血感染で問題となるHIV、HCV（ヒトC型肝炎ウイルス）はRNA型のエンベロープウイルスであり、HBV（ヒトB型肝炎ウイルス）はDNA型のエンベロープウイルスである。

また、輸血感染で問題となる細菌は、*Yersinia enterocolitica*（エルシニア菌）、*Serratia marcescens*（セラチア菌）などである。これらに感染している患者の血中菌数は $1 \times 10^1 \sim 1 \times 10^2$  CFU/mLであるが、不活化剤が含有されていない血液バッグを使用して採血すると、約3週間で $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^8$  CFU/mLに増加し、このような濃度の血液を輸血するとエンドトキシンショックで死亡することもある。

本発明では、輸血用血液中のこれらの病原微生物を不活化する薬剤（以下、不活化剤と称する）として、抗がん剤として知られる白金化合物、より具体的には、病原微生物の核酸と結合できる白金化合物および／または該白金化合物のアコ錯体（両者を単に白金化合物と称することもある）を用いることを特徴とする。不活化剤として、これらの白金化合物を使用した場合、病原微生物の核酸に該白金化合物が結合することにより、病原微生物が不活化されるものと推定される。

本発明に使用される白金化合物は病原微生物の核酸に結合性を有するものであり、具体的には、例えばシスプラチン、カルボプラチン、ネダプラチンなどが例示される。これらは2種以上併用することもできる。

また、本発明には、該白金化合物のアコ錯体、すなわち、シスプラチン、カルボプラチン、ネダプラチンなどのアコ錯体を使用することができる。アコ錯体としては、モノアコ錯体として、例えば*cis-monochloromonoaqua(II)chloride*、ジアコ錯体として、例えば*cis-diaquodiammineplatinous(II)dinitrate*、モノアコモノヒドロキソ錯体として、例えば*cis-monohydroxymonoaqua diammineplatinous(II)chloride*、ジヒドロキソ錯体として、例えば*cis-dihydroxydiammineplatinum(II)* が好適である。これらは2種以上併用することができる。また、前記白金化合物と併用することもできる。

白金化合物は、好ましくは開閉手段である弁51を開放することにより、連結チューブ5を介して容器2から血液バッグ1に導入できるように生理食塩水やブドウ糖水溶液に溶解させて浸透圧比1前後の液体の状態で容器2に収容されることが好ましい。

また、白金化合物は、光により分解したり、イオン濃度により安定性が変わるので、不活化剤を収容する容器2に遮光容器を用いたり、塩化ナトリウムなどによりイオン濃度を調整した状態で容器2に収容するのが好ましい。

本発明の病原微生物を不活性化する方法は、予め血液が収容された血液バッグに、上記した白金化合物または該白金化合物のアコ錯体を主成分とする不活化剤を添加することにより、血液中に含まれる病原微生物を不活化するものであり、上記した本発明の血液バッグシステムにより好ましく実施される。以下、図2の

血液バッグシステムを用いて本発明の病原微生物を不活化する方法を説明する。

具体的には、図2の血液バッグシステムにおいて、採血針7および採血チューブ6を介して採血した血液を収容した血液バッグ1に、連結チューブ5に取り付けられた弁51を開放することで、容器2から血液バッグ1に不活化剤が導入され、本発明の病原微生物を不活化する方法が実施される。

本発明の方法において、白金化合物の使用量は、時間、温度、病原微生物を含む血液成分組成と濃度などにより変化する。不活化処理時において、血液バッグ1中の白金化合物の最終濃度が0.02mM ( $\mu\text{mol/mL}$ ) 程度、具体的には0.0209mMであっても、血液バッグ内に収容された血液中の病原微生物を不活化させることができる。ただし、血液バッグ1中における白金化合物の最終濃度は、0.07~100mMであることが好ましく、より好ましくは1~10mMである。白金化合物の最終濃度が該濃度であれば、血液中の病原微生物を不活化させる効果が大きく、具体的には血液中の病原微生物を $1\log_{10}$ 以上不活化させることができる。白金化合物の最終濃度が100mM超であると、溶媒によっては容易に溶解することができず溶液を調整するのが困難である。

なお、ここでいう白金化合物の最終濃度とは、不活化処理の際、使用される白金化合物を実質的にはほぼ全て血液バッグ1に導入した時点における白金化合物の濃度 (mM) である。

本発明の方法における白金化合物の使用量を具体的に示すと、白金化合物がシスプラチニンであって、濃厚赤血球製剤 (R C - M A P) 中の病原微生物を不活化処理する場合、最終濃度が $21\mu\text{g/mL}$ ~ $30\text{mg/mL}$ 、好ましくは $0.3\text{mg/mL}$ ~ $3\text{mg/mL}$ になる量で使用する。

なお、シスプラチンのがん細胞に対する有効濃度は0.25 μg/mL (Ehrlichがん初代培養細胞に対する増殖阻害活性 (IC<sub>50</sub>))であるから、上記したシスプラチン最終濃度21 μg/mLは84倍もの高濃度である。すなわち、血液製剤の場合には、ヒトへの抗がん剤としての使用濃度より遥かに高濃度で使用することになる。

本発明の方法において、白金化合物を血液に添加し、白金化合物と病原微生物の核酸とを反応させる温度は、0℃以上であればよいが、血液製剤への影響を考慮して、4～30℃であるのが好ましい。

また、本発明の方法において、白金化合物を血液に添加すると、白金化合物と病原微生物の核酸とは直ちに反応を開始するが、病原微生物の不活化をより完璧にするために3時間以上反応させるのが好ましい。

本発明の方法で使用される白金化合物は毒性学的には毒物に属すものであり、かつ上記したように非常に高濃度で使用するため、不活化処理後白金化合物による毒性を和らげるために、中和処理することが好ましい。このような中和処理では、白金化合物を含む抗がん剤の毒性を毒性学的に安全にするために通常使用される中和剤を、不活化後の白金化合物を含有する血液製剤に添加するのが好ましい。また、光照射して、中和処理することもできる。なお、中和処理は白金化合物の微生物の核酸に対する反応性を低下させることでもあり、不活化反応を終了させる役割も果たすことができる。

上記所望の時間不活化反応した後、白金化合物を含有する血液製剤に中和剤を添加するには、例えば、開閉手段である弁を有する連結チューブを介して血液バッグ1に中和剤を含有する容器を連結しておき、必要に応じて弁を開放して血液

バッグ1に中和剤を導入すればよい。また、シリンジ等を用いてエア抜き用のチューブ10から血液バッグ1に中和剤を導入してもよい。

中和剤は微生物不活化剤である白金化合物濃度の42倍以上の濃度で、白金化合物と反応させれば完全に中和処理できるが、通常は10～500倍、好ましくは25～100倍の濃度になるように添加される。

中和処理は、0℃以上の温度であれば効果が現れるが、血液製剤の機能への影響を考慮して4～30℃で反応させるのが好ましい。

また、白金化合物を添加すると直ちに反応を開始するが、中和処理を確実にするために30分～1時間程度反応させるのがよい。

中和剤は、例えば、シスプラチンに対してはチオ硫酸ナトリウムなどのチオ硫酸塩、メチオニン、システインなどのアミノ酸、グルタチオン、補酵素Aなどのチオール化合物であるが、チオ硫酸ナトリウムやメチオニンが好適である。これらの中和剤は、血液バッグ1に導入する際に都合がよいように、生理食塩水またはブドウ糖水溶液に溶解させて浸透圧比1前後の液体の状態で添加されることが好ましい。

なお、メチオニンのような光分解性中和剤は、遮光容器で保存するのが好ましい。

以上、図1および図2の血液バッグシステムを用いて本発明の病原微生物を不活化する方法を説明したが、本発明の方法はこれに限定されない。例えば、本発明の血液バッグシステムが、血液バッグ中に抗凝固剤および不活化剤を予め収容しているのであれば、採血した血液を血液バッグに導入した時点から血液中の病原微生物の不活化反応が開始される。また、予め血液が収容された血液バッグに

注射器等を用いて不活化剤を導入することで本発明の方法を実施してもよい。

したがって、上記した白金化合物および該白金化合物のアコ錯体を有効成分とする予め採血された血液中の病原微生物の不活化剤および上記白金化合物および該白金化合物のアコ錯体を予め採血された血液中の病原微生物の不活化剤として使用する方法も本発明に含まれる。

### 実施例

以下実施例を用いて、本発明について詳細に説明する。ただし、本発明はこれに限定されるものではない。

#### (実施例 1)

[DNA型のノンエンベロープウイルスであるシミアンウイルス40 (SV-40) のウイルス不活化]

図1に示す血液バッグシステムの400mLのCPDA血液バッグに、ヒト健常人より採血を行い、RC-MAP（濃厚赤血球製剤）を調整した。その後、RC-MAP 2mLを無菌的に15mLの遠心管に採取し、 $10^8$  TCID<sub>50</sub>/mL (50%感染終末点) のSV-40を2mL添加し、軽く攪拌した。これに、不活化剤として、塩化ナトリウムおよび塩酸を含む水溶液中にシスプラチニンを濃度1.67mMで含有するシスプラチニン溶液（プリプラチニン（登録商標名））を2mL加え、軽く攪拌した後、室温（暗所）で7時間反応させ、不活化を行なった。不活化終了後、不活化生成液を3000rpmで1分間遠心分離し、遠心上清をウイルス不活化評価に用いた。

また、シスプラチニン溶液の代わりに、不活化剤として、りん酸緩衝液にカルボ

プラチナ（パラプラチナ（登録商標名））を溶解させた濃度3.5 mMのカルボプラチナ溶液、りん酸緩衝液にネダプラチナ（アクプラ（登録商標名））を溶解させた濃度3.5 mMのネダプラチナ溶液を用いて同様に不活化を行い、不活化生成液の遠心上清をウイルス不活化評価に用いた。

ウイルス不活化評価は、96 ウエルのマイクロプレートを用いた T C I D<sub>50</sub> で行った。25 cm<sup>2</sup> の細胞培養用フラスコ中で、SV-40 の増殖細胞である CV-1 細胞（サル腎臓由来細胞）を 10% 胎児牛血清加MEM培地で 3 日間培養し、増殖させた後、0.5 mL の 0.05% トリプシン-EDTA で浮遊させ、2.5 mL の 10% 胎児牛血清加MEM培血で細胞浮遊液を調製した。

該細胞浮遊液を 96 ウエルのマイクロプレートの各ウエルに 90 μL づつ添加した後、96 ウエルのマイクロプレート上の第一列目に反応液（前記遠心上清）を 10 μL 添加し、ピペッティングを行い、攪拌した。さらに、第一列目の各ウエルの溶液を第二列目の各ウエルに 10 μL 添加して 10 倍の段階希釈操作を第十二列目のウエルまで行った。これを 37°C の 5% 炭酸ガスインキュベーター内で 10 日間の培養を行い、SV-40 による細胞変性（CPE）の有無を光学顕微鏡で確認し、対数値（log<sub>10</sub>）として T C I D<sub>50</sub> を算出した。

同時に白金化合物の代わりにりん酸緩衝液を添加したものを陽性コントロールとし、対数値（log<sub>10</sub>）として T C I D<sub>50</sub> を求めた。そして、陽性コントロールの T C I D<sub>50</sub>、不活化生成液の T C I D<sub>50</sub> を差し引いた値を SV-40 の死滅効果とした。

結果を図3に示す。図3において、不活化効果とは、上記した陽性コントロールの T C I D<sub>50</sub>（対数値（log<sub>10</sub>））から、不活化生成液の T C I D<sub>50</sub>（対数値

( $\log_{10}$ ) ) を差し引いた値である。

ここで、陽性コントロールの T C I D<sub>50</sub> は 6. 5  $\log_{10}$  であり、不活化剤としてシスプラチン溶液、カルボプラチン溶液、ネタプラチン溶液と反応させた不活化生成液の T C I D<sub>50</sub> は、それぞれ 1. 25  $\log_{10}$  、 5. 50  $\log_{10}$  、 2. 25  $\log_{10}$  であった。ここから前者から後者を差し引いた結果として、濃度 1. 67 mM のシスプラチン溶液では 5. 25  $\log_{10}$  、濃度 3. 5 mM のカルボプラチン溶液では 1. 00  $\log_{10}$  、濃度 3. 5 mM のネタプラチン溶液では 4. 25  $\log_{10}$  の不活化効果があったことが確認された。

#### (実施例 2)

[本発明の血液バッグシステムを用いたDNA型のノンエンベロープウイルスであるシミアンウイルス 40 (S V-40) のウイルス不活化]

ヒト健常人より採血を行い、 R C-M A P (濃厚赤血球製剤) を調製して図 2 に示す血液バッグシステムの血液バッグ 1 (400 mL の C P D A 血液バッグ) に導入した。その後、エア抜き用のチューブ 10 から、注射器を用いて R C-M A P 2 mL当たりの量で 10<sup>8</sup> T C I D<sub>50</sub>/mL (50% 感染終末点) の S V-40 を 2 mL 添加して血液バッグ 1 を軽く攪拌した。

次に、弁 51 を開放することにより、容器 2 から不活化剤としてシスプラチンを塩化ナトリウムおよび食塩水を含む水溶液中に濃度 1. 67 mM ( $\mu$  mol/mL) で含有するシスプラチン溶液 (プリプラチン (登録商標名) 、プリストル・マイヤーズスクイブ株式会社製) を R C-M A P 2 mL当たりの量で 2 mL 血液バッグ 1 に導入した。その後、軽く攪拌した後、室温 (暗所) で 7 時間反応させ、不活化を行なった。不活化終了後、血液バッグ 1 から不活化生成液 4 mL を採取して 300

0 rpm で 1 分間遠心分離し、遠心上清をウイルス不活化評価に用いた。

また、シスプラチニ溶液の代わりに、不活化剤として、りん酸緩衝液にカルボプラチニ（パラプラチニ（登録商標名）、プリストル製薬株式会社製）を溶解させた濃度 3.5 mM のカルボプラチニ溶液、リン酸緩衝液にネダプラチニ（アクプラ（登録商標名）、塩野義製薬株式会社製）を溶解させた濃度 3.5 mM のネダプラチニ溶液を用いて同様に不活化を行い、血液バッグ 1 から採取した不活化生成液の遠心上清をウイルス不活化評価に用いた。

ウイルス不活化評価は、96 ウエルのマイクロプレートを用いた T C I D<sub>50</sub> で行った。25 cm<sup>2</sup> の細胞培養用フラスコ中で、S V-40 の増殖細胞である C V-1 細胞（サル腎臓由来細胞）を 10% 胎児牛血清加MEM 培地で 3 日間培養し、増殖させた後、0.5 mL の 0.05% トリプシン-EDTA で浮遊させ、2.5 mL の 10% 胎児牛血清加MEM 培血で細胞浮遊液を調製した。

該細胞浮遊液を 96 ウエルのマイクロプレートの各ウエルに 90  $\mu$ L ずつ添加した後、96 ウエルのマイクロプレート上の第一列目に反応液（前記遠心上清）を 10  $\mu$ L 添加し、ピペッティングを行い、攪拌した。さらに、第一列目の各ウエルの溶液を第二列目の各ウエルに 10  $\mu$ L 添加して 10 倍の段階希釈操作を第十二列目のウエルまで行った。これを 37°C の 5% 炭酸ガスインキュベーター内で 10 日間の培養を行い、S V-40 による細胞変性（CPE）の有無を光学顕微鏡で確認し、対数値 ( $\log_{10}$ ) として T C I D<sub>50</sub> を算出した。

同時に白金化合物の代わりにりん酸緩衝液を添加したものを陽性コントロールとし、対数値 ( $\log_{10}$ ) として T C I D<sub>50</sub> を求めた。そして、陽性コントロールの T C I D<sub>50</sub> から、不活化生成液の T C I D<sub>50</sub> を差し引いた値を S V-40 の死

滅効果（不活化効果）とした。

結果を図4に示す。図4において、不活化効果とは、上記した陽性コントロールのT C I D<sub>50</sub>（対数値（log<sub>10</sub>））から、不活化生成液のT C I D<sub>50</sub>（対数値（log<sub>10</sub>））を差し引いた値である。

ここで、陽性コントロールT C I D<sub>50</sub>は6. 0 log<sub>10</sub>であり、不活化剤として、シスプラチニン溶液、カルボプラチニン溶液、ネタプラチニン溶液と反応させた不活化生成液のT C I D<sub>50</sub>は、それぞれ1. 0 log<sub>10</sub>、4. 5 log<sub>10</sub>、2. 5 log<sub>10</sub>であった。ここから前者から後者を差し引いた結果として、図4には濃度1. 67 mMのシスプラチニン溶液では5. 0 log<sub>10</sub>、濃度3. 5 mMのカルボプラチニン溶液では1. 5 log<sub>10</sub>、濃度3. 5 mMのネタプラチニン溶液では3. 5 log<sub>10</sub>の不活化効果があったことが示されている。

### （実施例3）

[DNA型エンベロープウイルスであるヒトサイトメガロウイルス（HCMV）のウイルス不活化]

図1に示す血液バッグシステムの血液バッグ1（400mLのCPDA血液バッグ）に、ヒト健常人より採血を行い、RC-MAP（濃厚赤血球製剤）を調製した。その後、RC-MAP 2mLを無菌的に15mLの遠心管に採取し、10<sup>7</sup> T C I D<sub>50</sub>/mLのHCMVを2mL添加し、軽く攪拌した。これに不活化剤として、塩化ナトリウムおよび塩酸を含む水溶液中にシスプラチニンを濃度1. 67 mMで含有するシスプラチニン溶液（プリプラチニン（登録商標名））を2mL加え、軽く攪拌した後、室温（暗所）で7時間反応させ、不活化を行なった。不活化終了後、不活化生成液を3000 rpmで1分間遠心分離し、遠心上清をウイルス不活化評価に

用いた。

ウイルス不活化評価は、96 ウエルのマイクロプレートを用いた T C I D<sub>50</sub>で行った。25 cm<sup>2</sup> の細胞培養用フラスコ中で、H C M V の増殖細胞である H E L 細胞（初代ヒト胎児肺纖維芽細胞）を 10 % 胎児牛血清加 M E M 培地で 3 日間培養し、増殖させた後、0.5 mL の 0.05 % トリプシン- E D T A で浮遊させ、25 mL の 10 % 胎児牛血清加 M E M 培血で細胞浮遊液を調製した。

この細胞浮遊液を 96 ウエルのマイクロプレートの各ウエルに 90  $\mu$ L ずつ添加した後、96 ウエルのマイクロプレート上の第一列目に生成液（前記遠心上清）を 10  $\mu$ L 添加し、ピペッティングを行い、攪拌した。さらに、第一列目の各ウエルの溶液を第二列目の各ウエルに 10  $\mu$ L 添加して 10 倍の段階希釈操作を第十二列目のウエルまで行った。これを 37 °C の 5 % 炭酸ガスインキュベーター内で 14 日間の培養を行った後、H C M V による細胞変性（C P E）の有無を光学顕微鏡で確認し、対数値（log<sub>10</sub>）として T C I D<sub>50</sub> を算出した。同時に白金化合物の代わりにりん酸緩衝液を添加して陽性コントロールとし、対数値（log<sub>10</sub>）として T C I D<sub>50</sub> を求めた。そして、陽性コントロールの T C I D<sub>50</sub> から、不活化生成液の T C I D<sub>50</sub> を差し引いた値をシスプラチンの抗 H C M V 効果（不活化効果）とした。

ここで、陽性コントロールの T C I D<sub>50</sub> は、5.25 log<sub>10</sub> であり、シスプラチン溶液と反応させた不活化生成液の T C I D<sub>50</sub> は、1.25 log<sub>10</sub> であった。そして前者から後者を差し引くことにより、濃度 1.67 mM のシスプラチン溶液は、R C - M A P 中で H C M V を 4.00 log<sub>10</sub> 死滅させたことが確認された。

（実施例 4）

[RNA型エンベロープウイルスであるマウス肝炎ウイルス (MHV) のウイルス不活性化]

図1に示す血液バッグシステムの血液バッグ1 (400mLのCPDA血液バッグ) に、ヒト健常人より採血を行い、RC-MAP (濃厚赤血球製剤) を調製した。その後、RC-MAP 2mLを無菌的に15mLの遠心管に採取し、 $10^7$  TCID<sub>50</sub>/mLのMHVを2mL添加し、軽く攪拌した。これに不活化剤として、塩化ナトリウムおよび塩酸を含む水溶液中にシスプラチンを濃度1.67mMで含有するシスプラチン溶液 (プリプラチン (登録商標名)) を2mL加え、軽く攪拌した後、室温 (暗所) で7時間反応させ、不活性化を行なった。不活性化終了後、不活性化生成液を3000rpmで1分間遠心分離し、遠心上清をウイルス不活性化評価に用いた。

ウイルス不活性化評価は、96ウエルのマイクロプレートを用いたTCID<sub>50</sub>で行った。25cm<sup>2</sup>の細胞培養用フラスコ中で、MHVの増殖細胞であるDBT細胞を5%胎児牛血清加MEM培地で3日間培養し、増殖させた後、0.5mLの0.05%トリプシン-EDTAで浮遊させ、25mLの10%胎児牛血清加MEM培血で細胞浮遊液を調製した。

この細胞浮遊液を96ウエルのマイクロプレートの各ウエルに90μLずつ添加した後、96ウエルのマイクロプレート上の第一列目に生成液を10μL添加し、ピッティングを行い、攪拌した。さらに、第一列目の各ウエルの溶液を第二列目の各ウエルに10μL添加して10倍の段階希釈操作を第十二列目のウエルまで行った。これを37℃の5%炭酸ガスインキュベーター内で14日間の培養を行った後、MHVによる細胞変性 (CPE) の有無を光学顕微鏡で確認し、

対数値 ( $\log_{10}$ ) として T C I D<sub>50</sub>を算出した。同時に白金化合物の代わりにりん酸緩衝液を添加して陽性コントロールとし、対数値 ( $\log_{10}$ ) として T C I D<sub>50</sub>を求めた。そして、陽性コントロールの T C I D<sub>50</sub>から白金化合物と反応させた生成液の T C I D<sub>50</sub>を差し引いた値をシスプラチンの M H V 不活化効果とした。

ここで、陽性コントロールの T C I D<sub>50</sub>は、 5. 50  $\log_{10}$  であり、シスプラチン溶液と反応させた不活化生成液の T C I D<sub>50</sub>は、 1. 25  $\log_{10}$  であった。そして前者から後者を差し引くことにより、濃度 1. 67 mMのシスプラチン溶液は、 R C - M A P 中で M H V を 4. 0  $\log_{10}$  死滅させたことが確認された。

#### (実施例 5)

##### [細菌 *Yersinia enterocolitica* (エルシニア菌) の細菌不活化]

図 1 に示す血液バッグシステムの血液バッグ 1 (400 mL の C P D A 血液バッグ) に、ヒト健常人より採血を行い、 R C - M A P (濃厚赤血球製剤) を調製した。その後、 R C - M A P 2 mL を無菌的に 15 mL の遠心管に採取し、 10<sup>8</sup> CFU/mL のエルシニア菌を 2 mL 添加し、軽く攪拌した。これに不活化剤として、生理食塩水にシスプラチン (和光純薬株式会社製) を溶解させて濃度 4. 00 mM に調整したシスプラチン溶液を 2 mL 加え、軽く攪拌した後、室温 (暗所) で 7 時間反応させ、不活化を行なった。不活化終了後、不活化生成液を 3000 rpm で 1 分間遠心分離し、遠心上清をウイルス不活化評価に用いた。

同様に、不活化剤として、生理食塩水中にシスプラチン (和光純薬株式会社製) を溶解させて、濃度 2. 00 mM、 1. 00 mM、 0. 50 mM、 0. 25 mM、 0. 125 mM、 0. 0625 mM としたシスプラチン溶液を用いて不活化を行い、遠心

上清を細菌不活化評価に用いた。

抗細菌活性の評価は、生成液 1 mL を 9 mL の滅菌生理食塩液に添加した後、タッヂミキサーで攪拌し、得られた液を、さらに、9 mL の生理食塩液に添加して希釈した 10 倍の段階希釈操作を行ったものを対象にした。各段階の希釈液 1 mL または 100  $\mu$ L を、15 mL のソイビーンカゼインダイジェスト寒天培地を含む直径 9 cm のシャーレ中で混釀した。これを 31 °C で 2 日間培養し、出現したコロニー数を生残菌数とした。

なお、シスプラチニンを添加していないものを陽性コントロールとし、陽性コントロールの生残菌数（対数値  $(\log_{10})$ ）からシスプラチニンを添加した不活化生成液での生残菌数（対数値  $(\log_{10})$ ）を差し引いて細菌不活化効果とした。

結果を図 5 に示す。ここで、陽性コントロールの生残菌数は、5.00  $\log_{10}$  であり、シスプラチニン溶液で不活化させた不活化生成液の生残菌数は以下の通りであった。

シスプラチニン濃度	生残菌数
1.33 mM	0.06 $\log_{10}$
0.67 mM	1.48 $\log_{10}$
0.33 mM	2.27 $\log_{10}$
0.17 mM	2.80 $\log_{10}$
0.083 mM	3.79 $\log_{10}$
0.042 mM	4.52 $\log_{10}$
0.0209 mM	4.82 $\log_{10}$

そして前者から後者を差し引いた結果、各不活化剤の細菌死滅効果は以下の通

りであった。

不活化剤のシスプラチニン濃度 細菌死滅効果

1. 33 mM	4. 94 log <sub>10</sub>
0. 67 mM	3. 52 log <sub>10</sub>
0. 33 mM	2. 73 log <sub>10</sub>
0. 17 mM	2. 20 log <sub>10</sub>
0. 083 mM	1. 21 log <sub>10</sub>
0. 042 mM	0. 48 log <sub>10</sub>
0. 0209 mM	0. 18 log <sub>10</sub>

(実施例 6)

[シスプラチニンの無毒化／チオ硫酸ナトリウムまたはメチオニンと反応させた後の抗エルシニア菌活性]

図1に示す血液バッグシステムの血液バッグ1（400mLのCPDA血液バッグ）に、ヒト健常人より採血を行い、RC-MAP（濃厚赤血球製剤）を調製した。その後、RC-MAP 2mLを無菌的に15mLの遠心管に採取し、これに不活化剤として、生理食塩水にシスプラチニン（和光純薬株式会社製）を溶解させて濃度4.00mMに調整したシスプラチニン溶液を2mL添加し、軽く攪拌した。これに、生理食塩水にL-メチオニンを溶解させた濃度16.8mMのL-メチオニン溶液を2mL添加し、室温で30分間反応させた。

同様に、中和剤として、生理食塩水中にL-メチオニンを溶解させた濃度8.4mM、4.2mM、2.1mM、1.0.5mM、5.25mM、2.63mM、1.31mMのL-メチオニン溶液、または生理食塩水にチオ硫酸ナトリウムを溶解させた濃度16.8

mM、 8.4 mM、 4.2 mM、 2.1 mM、 1.0. 5 mM、 5. 2.5 mM、 2. 6.3 mM、 1. 3.1 mM のチオ硫酸ナトリウム溶液を用いて反応を行った。また、コントロールとして、不活性剤および中和剤の代わりにりん酸緩衝液を添加したもの（シスプラチ ンなし）を調製し、同様に反応を行った。その後、 $10^8$  CFU/mL のエルシニア菌を  $10 \mu\text{L}$  添加し、攪拌した後の菌数を測定した。

菌数測定は、生成液 1 mL を 9 mL の滅菌生理食塩液に添加した後、タッチミキサーで攪拌した液を、さらに 9 mL の生理食塩液に添加して希釈を行う 10 倍の段階希釈操作を 3 回行ったものを対象にした。各段階の希釈液 10 mL、1 mL または  $100 \mu\text{L}$  を 15 mL のソイピーンカゼインダイジェスト寒天培地を含む直径 9 cm のシャーレ中で混釀した。これを 31 °C で 2 日間培養し、出現したコロニー数を生残菌数とし、その対数値 ( $\log_{10}$ ) を中和効果とした。

図 6 に中和剤としてメチオニンを用いた中和処理の結果を示す。その結果、メチオニン濃度が 5.6 mM の中和剤を用いた例では、シスプラチ ンなしと同じ結果（生残菌数 5.  $1 \log_{10}$ ）が得られ、エルシニア菌は全く死滅しなかったことが確 認された。他の濃度の中和剤を用いた例では、生残菌数が以下の通りであった。

中和剤のメチオニン濃度	生残菌数
2.8 mM	3. 3.6 $\log_{10}$
1.4 mM	1. 8.7 $\log_{10}$
0.7 mM	1. 4.3 $\log_{10}$
0.3.5 mM	1. 2.2 $\log_{10}$
0.1.75 mM	0. 8.9 $\log_{10}$
0.0.88 mM	0. 7.3 $\log_{10}$

0. 44 mM

0. 34 log<sub>10</sub>

一方、中和剤としてチオ硫酸ナトリウムを用いた中和処理の結果を図7に示す。チオ硫酸ナトリウム濃度が5.6 mMの中和剤を用いた例は、シスプラチンなしと同じ結果（生残菌数 5. 1 log<sub>10</sub>）が得られ、エルシニア菌は全く死滅しなかったことが確認された。他の濃度の中和剤を用いた例では、生残菌数が以下の通りであった。

中和剤のチオ硫酸ナトリウム濃度	生残菌数
2.8 mM	4. 22 log <sub>10</sub>
1.4 mM	2. 35 log <sub>10</sub>
7 mM	1. 98 log <sub>10</sub>
3. 5 mM	1. 51 log <sub>10</sub>
1. 75 mM	1. 28 log <sub>10</sub>
0. 88 mM	0. 86 log <sub>10</sub>
0. 44 mM	0. 44 log <sub>10</sub>

(実施例7)

[シスプラチンの中和処理／シスプラチンをチオ硫酸ナトリウムまたはメチオニンと反応させた後の抗SV-40活性]

図1に示す血液バッグシステムの血液バッグ1（400 mLのCPDA血液バッグ）に、ヒト健常人より採血を行い、RC-MAP（濃厚赤血球製剤）を調製した。その後、RC-MAP 1 mLを無菌的に15 mLの遠心管に採取し、これに不活性剤として、生理食塩水にシスプラチン（和光純薬株式会社製）を溶解させて濃度3. 5 mMに調整したシスプラチン溶液を1 mL添加し、軽く攪拌した。これに中

和剤として、チオ硫酸ナトリウムを生理食塩水に溶解した濃度 175 mM のチオ硫酸ナトリウム溶液を 1 mL 添加し、室温で 30 分間反応させた。その後、10<sup>8</sup> TCID<sub>50</sub>/mL の SV-40 を 0.5 mL 添加し、軽く攪拌した後、室温のインキュベーター内（暗所）で 30 分間反応させた。反応終了後、生成液を 3000 rpm で 1 分間遠心分離し、遠心上清をウイルス不活化評価に用いた。

ウイルス不活化評価は、96 ウエルのマイクロプレートを用いた TCID<sub>50</sub> で行った。25 cm<sup>2</sup> の細胞培養用フラスコ中で、SV-40 の増殖細胞である CV-1 細胞（サル腎臓由来細胞）を 10% 胎児牛血清加 MEM 培血で 3 日間培養し、増殖させた後、0.5 mL の 0.05% トリプシン-EDTA で浮遊させ、25 mL の 10% 胎児牛血清加 MEM 培血で細胞浮遊液を調製した。

この細胞浮遊液を 96 ウエルのマイクロプレートの各ウエルに 90 μL ずつ添加した後、96 ウエルのマイクロプレート上の第一列目に生成液を 10 μL 添加し、ピペッティングを行い、攪拌した。さらに、第一列目の各ウエルの溶液を第二列目の各ウエルに 10 μL 添加して 10 倍の段階希釈操作を第十二列目のウエルまで行った。これを 37°C の 5% 炭酸ガスインキュベーター内で 10 日間の培養を行った後、SV-40 による細胞変性（CPE）の有無を光学顕微鏡で確認し、対数値 ( $\log_{10}$ ) として TCID<sub>50</sub> を算出した。同時にシスプラチンの代わりにりん酸緩衝液を添加した陽性コントロールとし、対数値 ( $\log_{10}$ ) として TCID<sub>50</sub> を求めた。そして、陽性コントロールの TCID<sub>50</sub> から、不活化生成液の TCID<sub>50</sub> を差し引いた値を SV-40 の死滅効果（不活化効果）とした。

その結果、陽性コントロールの TCID<sub>50</sub> (6.00 log<sub>10</sub>) から、不活化剤として濃度 3.5 mM のシスプラチン溶液を添加しその後に中和剤として濃度 17

5 mMのチオ硫酸ナトリウム溶液を添加した例のT C I D<sub>50</sub> (6. 00 log<sub>10</sub>) を差し引いたところ、S V-40の死滅効果、すなわち不活化効果は認められなかった。これは、シスプラチンを濃度3. 5 mMで含有する不活化剤がチオ硫酸ナトリウムを濃度175 mMで含有する中和剤の添加により中和処理されたことを意味する。

(実施例8)

[シスプラチンの赤血球製剤への溶血毒性]

図1に示す血液バッグシステムの血液バッグ1 (400 mLのCPDA血液バッグ) に、ヒト健常人より採血を行い、RC-MAP (濃厚赤血球製剤) を調製した。その後、RC-MAP 1 mLを無菌的に15 mLの遠心管に採取し、これにシスプラチンを塩化ナトリウムおよび食塩水を含む水溶液中に濃度1. 67 mMで含有するシスプラチン溶液 (プリプラチン (登録商標名)) 1 mLと、生理食塩水1 mLとを軽く混和して添加し、室温 (暗所) で7時間反応させた。その後、生成液を2000 rpmで5分間遠心分離し、遠心上清にDrabkin's 試薬を加えて反応させ、540 nmの吸光度を測定して、溶血率をシアンメトヘモグロビン法により測定した。その結果、シスプラチンの溶血率は0. 1%以下であり、赤血球製剤に対して溶血毒性が低いことが確認された。

#### 産業上の利用可能性

本発明では、抗がん剤として使用される特性が広く知られている白金化合物を、血液中の病原微生物の不活化剤として使用するため、安全であり、かつ不活化剤の入手が容易である。また、不活化剤を新たに開発する必要がないのでコス

ト的にも優れている。

また、本発明において、白金化合物を0.07 mM以上という本来の抗がん剤としての使用量よりも遙かに高濃度で使用すれば、病原微生物を不活化する効果が大きく、かつ不活化効果の持続性に優れる。

本発明において、不活化された血液を、抗がん剤の中和処理または洗浄処理を行ってから輸血すれば、がん治療に使用する抗がん剤の本来の用法とは全く異なり、微生物学的および毒性学的に安全な血液製剤を供給することが可能である。

本発明において、病原微生物が不活化され、好ましくは中和処理された血液または血液成分は、バッグ毎に切り離され、輸血に使用される。保存、輸送に際しては、従来のバッグに適用される方法、手段をそのまま適用することができる。

## 請求の範囲

1. 液体を収納可能な 1 以上の容器と、該容器に液密に接続される連結チューブと、を含む血液バッグシステムであつて、  
該容器の少なくとも 1 つには、血液に含まれる病原微生物を不活性化する不活性化剤および／または抗凝固剤が収容されており、  
該不活性化剤は、該微生物の核酸に結合できる白金化合物または該白金化合物のアコ錯体を主成分とするものであることを特徴とする血液バッグシステム。
2. 前記容器は、2 つ以上であり、  
前記不活性化剤と、前記抗凝固剤とは、各々異なる容器に収容されており、  
前記不活性化剤が収容されている容器と、前記抗凝固剤が収容されている容器とは、前記連結チューブで連結されていることを特徴とする請求項 1 に記載の血液バッグシステム。
3. 前記白金化合物が、シスプラチン、カルボプラチンおよびネダプラチンからなる群から選択される少なくとも一つである請求項 1 または 2 に記載の血液バッグシステム。
4. 前記白金化合物のアコ錯体が、モノアコ錯体、ジアコ錯体、モノアコモノヒドロキソ錯体およびジヒドロキソ錯体からなる群から選択される少なくとも一つである請求項 1 または 2 に記載の血液バッグシステム。
5. 前記病原微生物がDNA型ウイルス、RNA型エンベロープウイルスおよび細菌からなる群から選択される少なくとも一つである請求項 1 ないし 4 のいずれかに記載の血液バッグシステム。

6. 血液に含まれる病原微生物を不活化する方法であって、予め採取した血液が収容された血液バッグに、該病原微生物の核酸に結合できる白金化合物または該白金化合物のアコ錯体を主成分とする微生物不活化剤を添加することを特徴とする病原微生物を不活化する方法。

7. 前記微生物不活化剤を 0.07 mM ( $\mu\text{mol/mL}$ ) 以上の濃度となるように添加し、前記血液バッグに収容された血液中の  $1\log_{10}$  以上の前記病原微生物を不活化させる請求項 6 に記載の病原微生物を不活化する方法。

8. 前記微生物不活化剤を添加した後に、アミノ酸化合物またはチオ硫酸塩を主成分とする中和剤を添加して該不活化剤を中和処理する請求項 6 または 7 に記載の病原微生物を不活化する方法。

9. 前記中和剤が、メチオニンまたはチオ硫酸ナトリウムである請求項 8 に記載の病原微生物を不活化する方法。

10. 前記中和剤を前記微生物不活化剤の 10 ~ 500 倍の濃度となるように添加する請求項 8 または 9 に記載の病原微生物を不活化する方法。

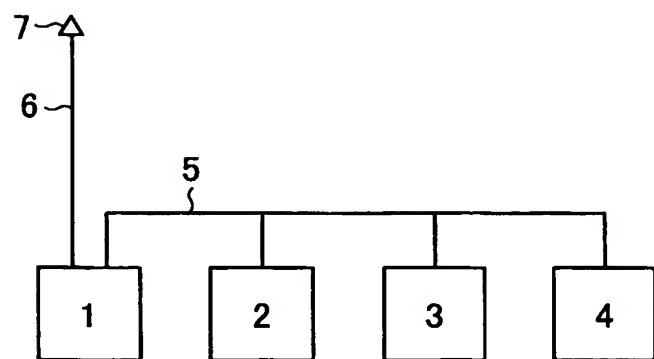
1/3  
FIG. 1

FIG. 2

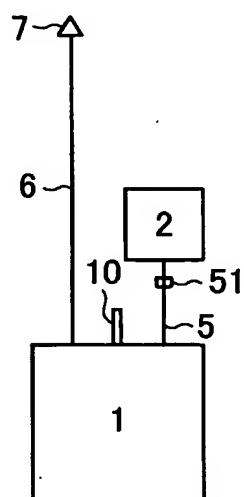
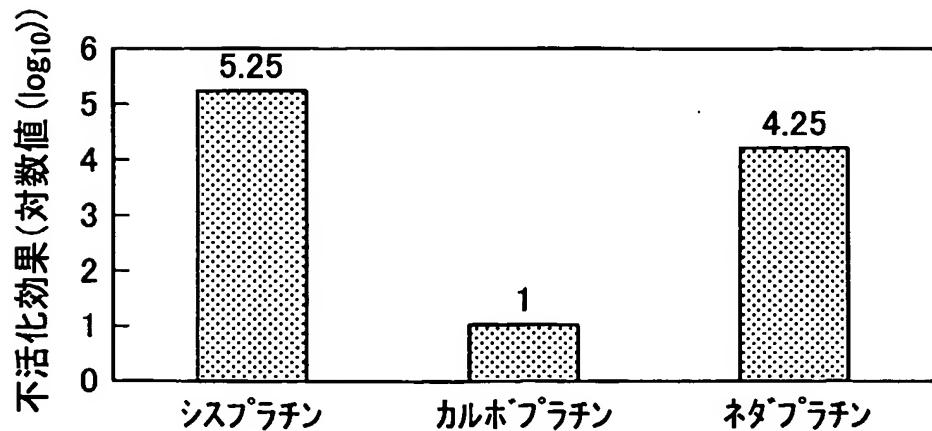


FIG. 3



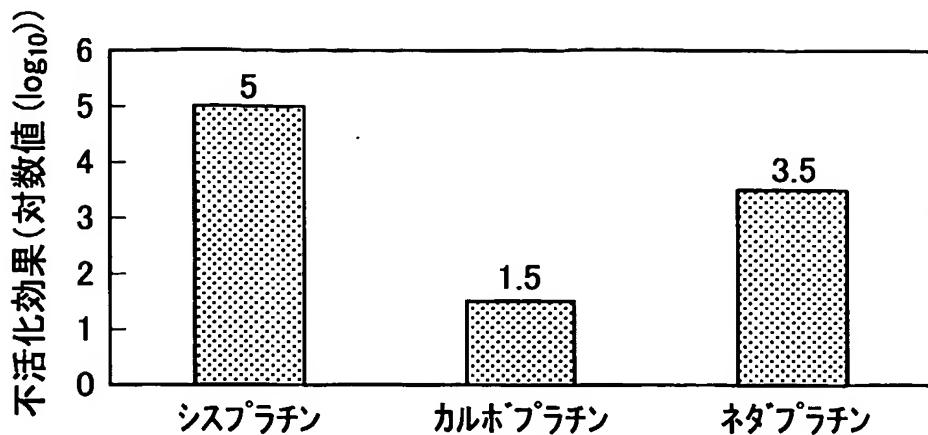
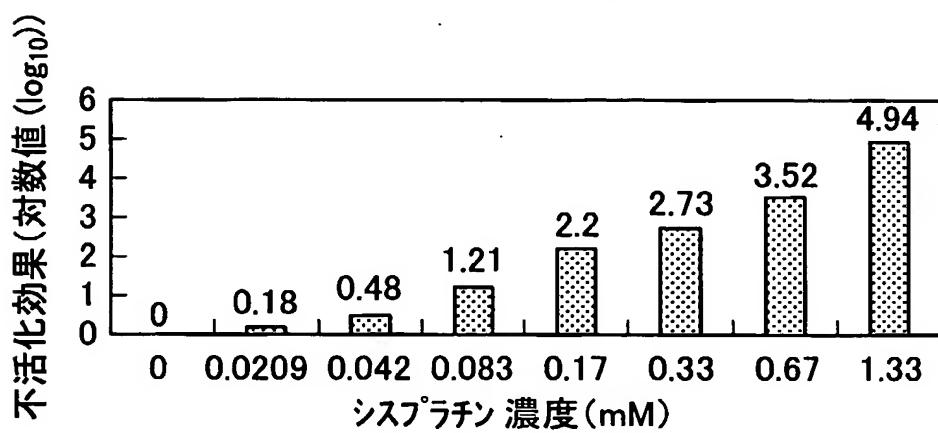
2/3  
FIG. 4

FIG. 5



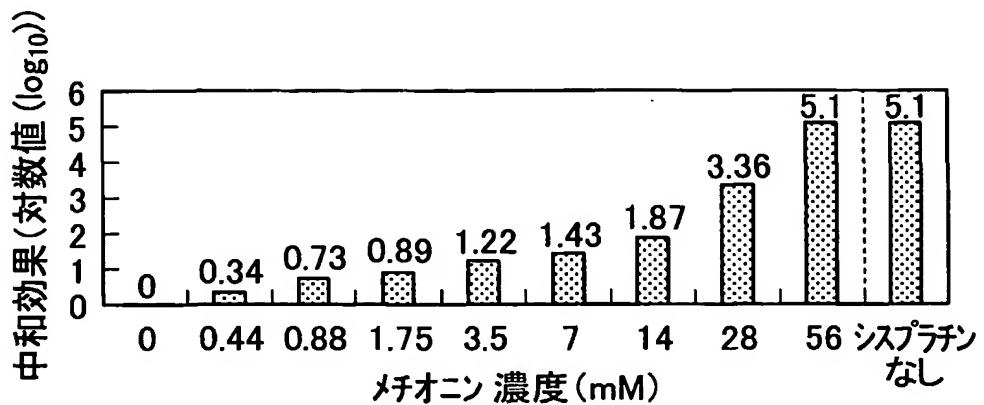
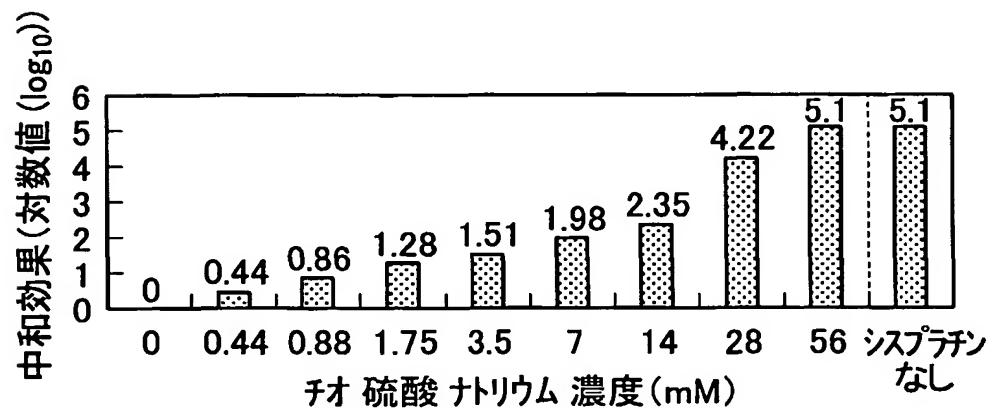
3/3  
FIG. 6

FIG. 7



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/JP02/13687

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
Int.Cl<sup>7</sup> A61J3/00, A61M1/36

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> A61J3/00, A61M1/36

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2003  
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2003 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2003

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 9-511152 A (Steritech, Inc.), 11 November, 1997 (11.11.97), Full text; Figs. 1 to 7 & WO 95/12973 A1	1-10

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
---	--

Date of the actual completion of the international search  
27 March, 2003 (27.03.03)Date of mailing of the international search report  
15 April, 2003 (15.04.03)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl' A61J 3/00, A61M 1/36

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl' A61J 3/00, A61M 1/36

## 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2003年
日本国登録実用新案公報	1994-2003年
日本国実用新案登録公報	1996-2003年

## 国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 9-511152 A (ステリテック、インコーポレーテッド) 1997. 11. 11 全文、第1-7図 & WO 95/12973 A1	1-10

 C欄の続きにも文献が例挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）  
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

## の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
 「&」同一パテントファミリー文献

## 国際調査を完了した日

27. 03. 03

## 国際調査報告の発送日

15.04.03

## 国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

## 特許庁審査官（権限のある職員）

生越 由美

印

3E

8208

電話番号 03-3581-1101 内線 3346